

## STRUCTURE, MISE EN PLACE ET RÉSORPTION DES SYSTÈMES CHITINOPROTÉIQUES DE LA CUTICULE DES CRUSTACÉS

par

Ch. Jeuniaux et G. Goffinet

Laboratoires de Morphologie, Systématique et Ecologie animales,  
Institut Zoologique, 22 quai Ed. Van Beneden  
B-4020 Liège (Belgique)

Les progrès techniques de nos connaissances sur l'organisation submicroscopique et sur la nature chimique de la cuticule des Arthropodes conduisent à modifier quelque peu l'image que l'on en présente traditionnellement. On sait, par exemple, que la synthèse de chitine par l'ectoderme est loin d'être une propriété exclusive des Arthropodes; c'est au contraire une propriété largement répandue chez les Invertébrés de la lignée des Spiralia (Jeuniaux, 1982). Si la chitine constitue bien le moule organique de la cuticule, lui conférant tous ses détails morphologiques, elle n'existe cependant pas à l'état libre, mais bien associée à des protéines. Les propriétés mécaniques et physiques de la cuticule des Arthropodes sont surtout dues à des «additifs», protéines, quinones, lipoprotéines, cires, sels minéraux, qui sont également largement exploités par les autres groupes zoologiques pour l'édification de leurs squelettes. Enfin, le caractère anhiste de la cuticule des Arthropodes doit être remis en question, depuis qu'on a confirmé l'existence de prolongements cellulaires au sein des canalicules intracuticulaires. L'originalité des Arthropodes réside plutôt dans le fait que la synthèse et la biodégradation de la cuticule chitinoprotéique par les cellules de l'épiderme sont contrôlées au cours de la vie de l'individu, permettant le renouvellement et l'ajustement de cette cuticule de manière périodique.

Cet exposé a pour but de présenter une synthèse des travaux récents sur l'organisation de la charpente chitinoprotéique cuticulaire des Crustacés Décapodes, et sur sa résorption au cours de la mue.

### 1. STRUCTURE ET COMPOSITION DE LA CUTICULE

Le constituant principal de la cuticule est, comme Richards (1951) l'avait déjà suggéré, un complexe chitinoprotéique. Il semble bien démontré en effet que la chitine n'existe pas à l'état libre dans la cuticule, mais plutôt chimiquement associée à d'autres molécules, notamment à des protéines.

La fraction chitine du complexe glycoprotéique est un haut polymère linéaire de la  $\beta$ -N-acétyl-D-glucosamine, mais un certain nombre de résidus sont remplacés par des unités de glucosamine, probablement en proportion variable (Giles *et al.*, 1958).

Les protéines associées à la chitine ont été isolées et analysées par divers auteurs (Hackman, 1974; Welinder, 1975; Voss-Foucart et Jeuniaux, 1978). On y

reconnaît des fractions solubles, les arthropodines, et une fraction insoluble correspondant aux sclérotines, qui sont des protéines stabilisées par tannage quinonique. Chez les Crustacés Décapodes, nonobstant l'existence de légères variations de composition en acides aminés, on peut conclure que les arthropodines possèdent une composition assez homogène, caractérisée par la dominance de cinq acides aminés principaux : la glycine, les acides aspartique et glutamique, la proline et l'alanine.

Plusieurs types de liaisons covalentes entre chitine et protéines au sein du complexe chitinoprotéique sont possibles (Brine, 1982) : a) liaison éther entre un groupement alcool d'une unité d'acétylglucosamine et un résidu d'acide aminé, par exemple par l'intermédiaire de l'acide lactique; b) liaison de type acylglucosamine entre un groupe déacétylé de la chaîne de chitine et un groupement carboxylique d'un acide aspartique (ou glutamique) de la protéine; ou c) liaison de type N-glycosidique entre un groupement N-acétylglucosamine terminal et le groupement aminé d'une asparagine de la chaîne protéique.

Au niveau supramoléculaire, l'organisation de ces complexes chitino-protéiques a été étudiée par la microscopie électronique à haute résolution et par la diffraction des rayons X (Neville, 1975; Filshie et Hadley, 1979; Blackwell et Weih, 1980; Giraud-Guille, 1984). Il semble bien qu'on puisse concevoir la structure unitaire de base comme une longue microfibrille, dont l'axe central serait un cristallite de chitine contenant des molécules de chitine disposées de manière antiparallèle (ce qui donnerait le diagramme de diffraction des rayons X caractéristique de l' $\alpha$ -chitine, d'après Rudall, 1965). Cet axe serait entouré d'un manchon de molécules protéiques globulaires, disposées en spirale (Blackwell et Weih, 1980). A partir d'un tel modèle d'organisation, Mme Giraud (1984, 1986), dans le cas des Crustacés, a proposé deux interprétations possibles des images obtenues au microscope électronique à haute résolution.

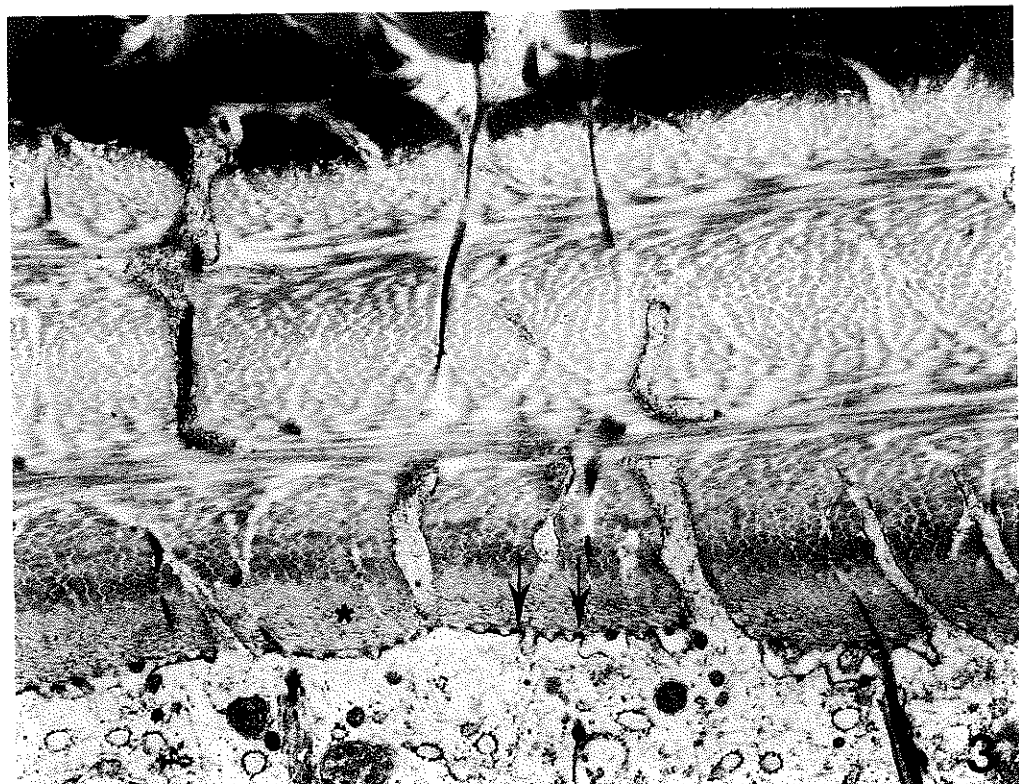
Dans les cuticules des Crustacés Décapodes, les microfibrilles chitino-protéiques sont plus ou moins associées en macrofibres, suivant le degré de minéralisation de la zone considérée et suivant le moment du dépôt. Dans la couche membraneuse, non calcifiée, qui est mise en place en dernier lieu tout à la fin de la période postecdysiale (C 3), les microfibrilles restent indépendantes et alignées de manière uniforme et homogène (Pl. I, Fig. 1). Dans les strates fortement calcifiées de la couche pigmentaire, préecdysiale, les microfibrilles sont empaquettées de telle sorte qu'elles constituent les réseaux réticulés (Pl. I, Fig. 2). Dans les strates également calcifiées de la couche principale, déposées pendant la période postecdysiale, les microfibrilles sont associées en faisceaux ou «bottes» de plusieurs dizaines, de manière à former des macrofibres (Pl. I, Fig. 3).

#### PLANCHE I

1 : Couche membraneuse au niveau de la lame branchiostège de *Carcinus maenas* (stade C4). Les microfibrilles, en disposition pseudo-parabolique, ne sont pas associées en macrofibres. Les canalicules intracuticulaires, à structure hélicoïdale accentuée, contiennent des restes de matériel cellulaire. (X 40.000).

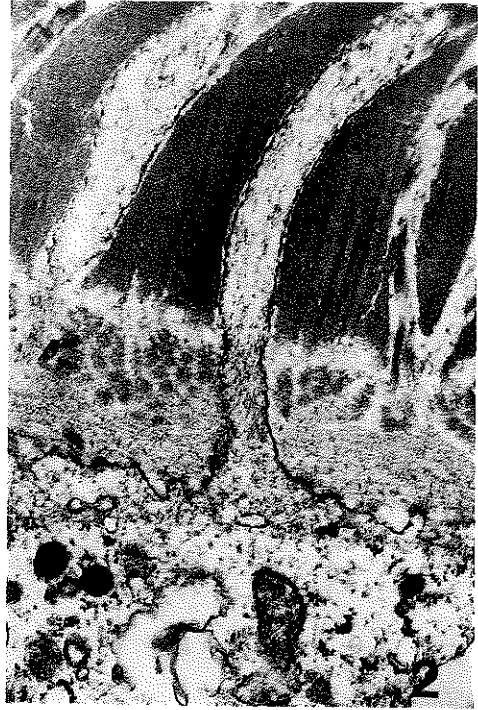
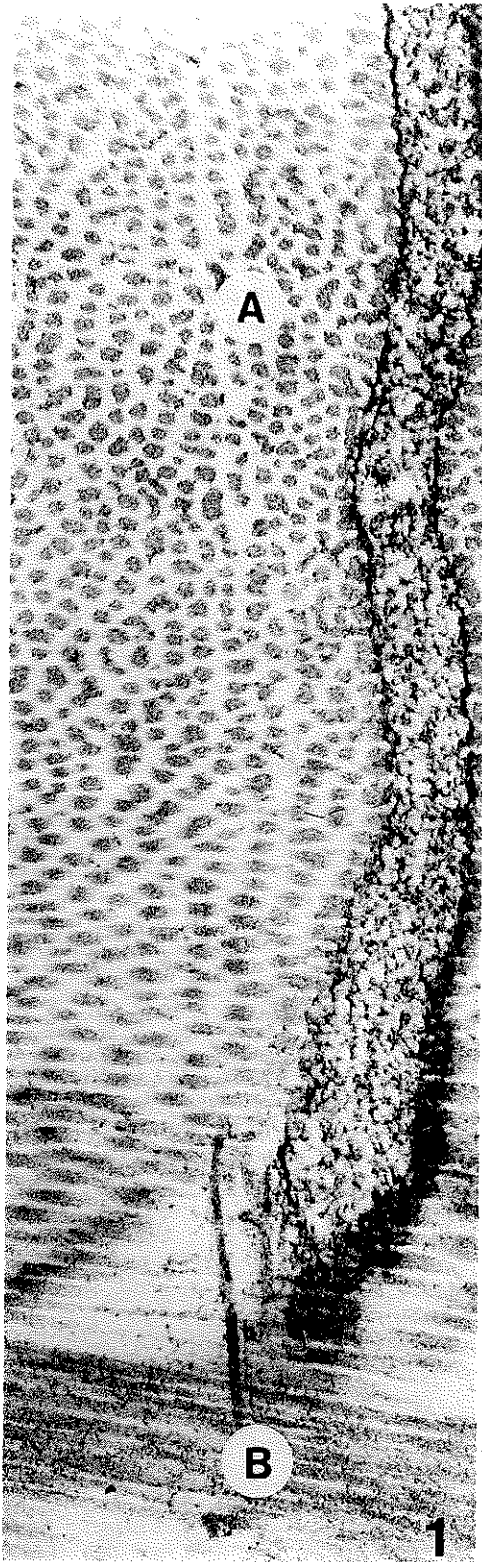
2 : Région moyenne de la couche pigmentaire de la lame branchiostège de *Carcinus maenas* (stade A2). Rétraction et/ou désorganisation des prolongements cellulaires dans les canalicules intracuticulaires verticaux et horizontaux. (X 12.000).

3 : *Carcinus maenas*. Formation de la 3<sup>e</sup> lamelle de la couche principale de la lame branchiostège, stade A2. La membrane apicale de la cellule épidermique est hérissée de nombreuses microvillosités à plaques denses (flèches). Un matériel organique en voie d'organisation (astérisque) forme la base de la cuticule en contact avec la membrane cellulaire. Les microfibrilles sont associées en macrofibres dans la couche principale. Les prolongements cellulaires occupent toute la lumière des canalicules intracuticulaires des lamelles proximales (X 18.000).



CH. JEUNIAUX et G. GOFFINET

PLANCHE I



La disposition spatiale de ces microfibrilles et macrofibres est hautement organisée, mais son interprétation a été l'objet de controverses. En effet, à faible ou moyenne résolution, les images obtenues au microscope électronique montrent une disposition apparemment parabolique, suggérant que les fibres situées dans un lit parallèle à la surface de la cuticule se courbent de  $180^\circ$  dans le plan vertical et passent ainsi dans le lit de fibres immédiatement supérieur (ou inférieur) (Pl. I, Fig. 1). Cette interprétation est largement abandonnée aujourd'hui, au profit de celle de Bouligand (1965), pour qui les fibres chitinoprotéiques sont toujours parallèles à la surface de la cuticule, dans des lits superposés, au sein desquels leur orientation change progressivement dans le plan horizontal, dans le sens des aiguilles d'une montre. Dans cette interprétation, l'épaisseur d'une lamelle correspond donc à une rotation des fibres de  $180^\circ$  dans le plan horizontal (Fig. 1). La figure 1 de la planche II, obtenue grâce à une meilleure résolution et de meilleures techniques de fixation, nous paraît confirmer pleinement la théorie de Bouligand.

## 2. SYNTHÈSE ET MISE EN PLACE DES MICROFIBRILLES CHITINOPROTÉIQUES

Dès l'apolyse, stade Do de la nomenclature des stades de mues (Drach, 1939), l'épiderme sécrète la cuticuline, partie de l'épicuticule, et ensuite une première série de strates chitinoprotéiques, celles qui constitueront la couche pigmentaire, entièrement précédysiale. Après exuviation, l'épiderme sécrète la couche principale, postecdysiale, ainsi que la couche membraneuse.

Pendant toute la durée de mue, qui va du stade Do à C3, des coupes ultrafines de tégument de *Carcinus maenas* observées au microscope électronique montrent, au niveau de l'apex des cellules épidermiques, de minuscules microvillosités, en contact direct avec la dernière strate cuticulaire en voie d'élaboration. Ces



FIG. 1

Interprétation, selon BOULIGAND (1965), de l'orientation spatiale des fibrilles chitinoprotéiques dans une procuticule d'Arthropode : les fibrilles sont disposées dans des plans parallèles, avec changement progressif d'orientation dans ces plans.

### PLANCHE II

1 : Lamelle de la couche principale de la cuticule (bouclier céphalonotal) de *C. maenas* au stade B. Les macrofibres changent graduellement d'orientation lorsqu'on passe du niveau (A), correspondant à la mi-hauteur de la lamelle, au niveau (B), limite inférieure de la lamelle. (X 42.000).

2 : Bouclier céphalonotal de *Carcinus maenas*. Jonction procuticule — ectoderme au stade D2 montrant le dépôt et l'organisation progressive des fibrilles chitinoprotéiques à partir des plaques denses des cellules épidermiques. (X 24.000).

3 : Région supérieure de la couche pigmentaire dans la cuticule précédysiale (stade D2, niveau de la lame branchiostège) de *C. maenas*. «Rétraction» du prolongement cellulaire intracanaiculaire et mise en place d'un manchon de fibres verticales (flèches). (X 32.000).



microvillosités (Pl. I, Fig. 3), régulièrement espacées, sont soulignées par une zone mince opaque aux électrons, qui correspond aux «plaques denses» décrites par Locke (1970) chez les Insectes. Suivant cet auteur, ces plaques denses jouent un rôle essentiel, sinon dans la synthèse, du moins dans l'organisation et le dépôt des microfibrilles chitinoprotéiques. De fait, sur les photos 3 (Pl. I) et 2 (Pl. II), on peut reconnaître au niveau de ces plaques denses la présence d'éléments microfibrillaires qui semblent en voie d'organisation. Des images comparables ont été obtenues par Christiansen et Costlow (1981) chez les stades larvaires de *Rhitropanopeus harrisi*.

Nos travaux sur *Carcinus maenas* (Goffinet et al., 1986) n'ont jamais permis de révéler la présence de structures comparables aux chitosomes, organites responsables de la biosynthèse de la chitine chez les champignons, dont Cohen (1982) aurait découvert l'existence dans des cultures de tissus d'insectes.

Ces chitosomes sont des organites intracellulaires de forme sphérique, qui contiennent le système enzymatique catalysant la synthèse de chitine (Ruiz-Herrera et al., 1975). Ce même système enzymatique a cependant été identifié et isolé à partir d'épidermes de Crustacés (Carey, 1965; Hohnke, 1971). Il s'agit d'une enzyme, la chitine synthétase, ou chitine-UDP-acétylglucosaminyl transférase, qui catalyse le transfert, sur une chitodextrine «accepteur», d'unités de N-acétyl-D-glucosamine à partir de l'uridine-diphosphate-N-acétylglucosamine. Mais on ne sait rien au sujet de la localisation intracellulaire de cette enzyme chez les Crustacés.

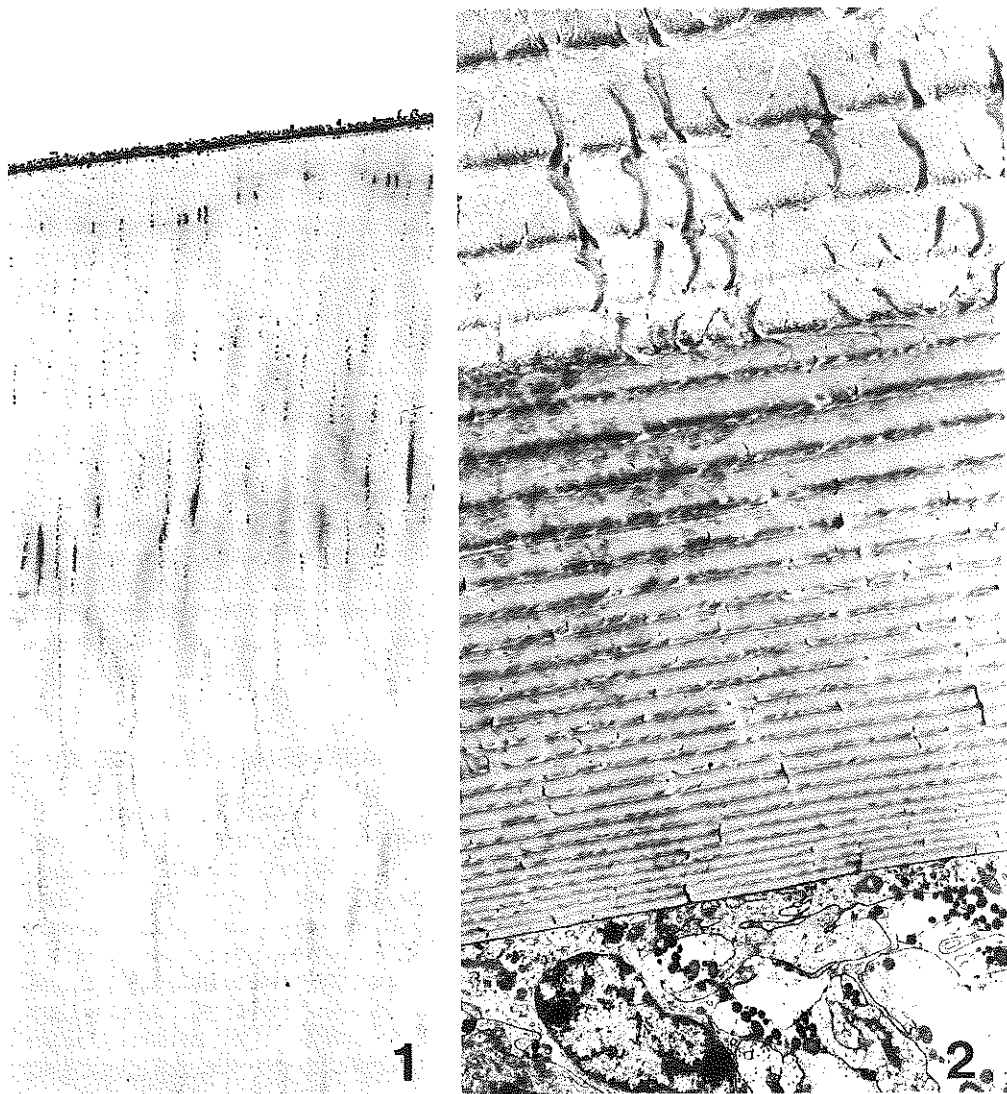
### 3. LES CANALICULES INTRACUTICULAIRES

Les constituants cuticulaires autres que les complexes chitinoprotéiques sont imbriqués dans l'architecture fondamentale que constituent les réseaux microfibrillaires, ou doivent la traverser pour atteindre les couches externes, notamment l'épicuticule. Une de voies d'acheminement de ces constituants, probablement la voie principale, est le système des canalicules intracuticulaires.

Décrits par les auteurs anglo-saxons sous le nom de «pore-canals», ces structures ont reçu, en français, différentes dénominations, notamment «canalicules poreux» ou encore «canaux poraires». Nous croyons qu'il convient d'abandonner ces néologismes ou ces termes inappropriés, et adopter l'expression «canalicules intracuticulaires», comme nous le justifions par ailleurs (Jeuniaux et Goffinet, *Traité de Zoologie, «Crustacés», sous presse*).

Ces canalicules ont fait l'objet d'une étude approfondie chez *Carcinus maenas* par Compère et Goffinet (cf : communication suivante). Bornons-nous ici à résumer l'essentiel de leurs observations.

Dès le début de la sécrétion de la procuticule, en période préecdysiale, les cellules épidermiques étirent de fins prolongements cellulaires ou microvillosités qui atteignent la base de la future épicuticule. La membrane plasmique de ces microvillosités est bien visible : elles est en contact étroit avec les strates chitinoprotéiques traversées, mais ne porte pas de plaques denses (Pl. II, Fig. 1). Au fur et à mesure que la cuticule s'épaissit, on constate la rétraction ou la dislocation progressive des prolongements cellulaires (Pl. I, Fig. 2 et Pl. II, Fig. 3). Ce phénomène se poursuit après l'exuviation. En période d'intermue, il semble bien que les canalicules ne contiennent plus de matériel cellulaire. Par contre, ils sont consolidés par un manchon formé de fibres à orientation verticale (Pl. II, Fig. 3). La formation de ce manchon torsadé est détaillée par Compère et Goffinet (*l. c.*). La disposition hélicoïdale des canalicules tire probablement son origine du changement d'orientation des fibres et fibrilles chitinoprotéiques au sein de chaque lamelle (Neville et Berg, 1971).



CH. JEUNIAUX et G. GOFFINET

PLANCHE III

1 : *C. maenas* : lame branchiostège, stade D2 (nouvelle cuticule). Mise en évidence de polyphénols par l'hexamine d'argent dans les canalicules épicuticulaires et au niveau de la cuticuline. (X 15.000).

2 : Couche membraneuse de la lame branchiostège de *C. maenas* au stade C4. On peut y remarquer la faible épaisseur des lamelles, au nombre d'une vingtaine, l'absence de macrofibres et la présence de canalicules intracuticulaires de section réduite et de forme torsadée à hélice très courte. (X 6.000).

Contrairement à l'opinion courante, les canalicules intracuticulaires ne sont pas uniquement rectilignes, mais peuvent bifurquer à angle droit pour former des canaux horizontaux, surtout dans la partie moyenne et profonde de la zone pigmentaire (Pl. I, Fig. 2). Le matériel cellulaire qu'on y observe peu après le dépôt de la strate qu'ils occupent (prolongement des microvillosités) se rétracte ou se désorganise au fur et à mesure de l'adjonction de nouvelles strates cuticulaires.

Nous avons pu confirmer, par la méthode à l'hexamine d'argent (Locke et Krishnan, 1971) que les canalicules intracuticulaires servent de voie de transport pour les polyphénols, précurseurs des quinones intervenant dans le tannage des protéines des couches externes. En effet, chez *Carcinus maenas* au stade D2, on peut observer le dépôt de grains d'argent au niveau de la cuticuline, ainsi que dans les canaux épicuticulaires de l'épicuticule interne, qui sont le prolongement de l'extrémité distale des canalicules intracuticulaires (Pl. III, Fig. 1) (Jeuniaux *et al.* 1986). D'autres substances sont probablement acheminées également par les canalicules intracuticulaires au niveau de l'épicuticule et de la couche pigmentaire, notamment des sels minéraux (surtout  $Ca^{++}$ ) et l'anhydrase carbonique (Giraud, 1981).

Enfin, il convient de reconnaître que la cuticule des Crustacés renferme d'autres types de canaux, dont les relations avec les canalicules intracuticulaires, que nous venons de décrire brièvement, ne sont pas clairement établies. Il s'agit d'une part de canaux occupés par des «fibres d'attachement musculaire», situées dans le prolongement des faisceaux de microtubules des cellules épidermiques, et d'autre part de canalicules à faible diamètre contenant un filament axial apparemment inséré sur l'épiderme (Green et Neff, 1972; Kummel *et al.*, 1970).

#### 4. LA COUCHE MEMBRANEUSE

Cette couche interne, mise en place à la fin de la période postecdysiale, n'est jamais calcifiée. Son épaisseur peut varier considérablement suivant l'espèce concernée. Elle est généralement très mince, mais peut atteindre une notable épaisseur, par exemple chez *Polycheles typhlops* (Palinuridae) (Voss-Foucart et Jeuniaux 1978). Elle présente une organisation lamellaire, généralement peu visible au microscope optique, en raison de la faible épaisseur des lamelles (Pl. III, Fig. 2). Rappelons que les fibres chitinoprotéiques n'y sont pas associées en microfibrilles. La couche membraneuse est traversée par des canalicules intracuticulaires, de forme torsadée à hélice très courte, de section apparemment plus étroite que celle des canalicules de la couche principale.

La couche membraneuse se gélifie tout au début de la période préecdysiale, peu après l'apolyse, sous l'effet des enzymes hydrolytiques (chitinases et protéases) d'origine épidermique. Mais il subsiste un gel visqueux qui, apparemment, facilite l'exuviation. Nous avons expliqué ce phénomène (Jeuniaux, 1959, 1963) en proposant l'existence de complexes chitinoprotéiques doués de propriétés hygroscopiques, contenus dans une «gangue» de chitine et d'arthropodines sensibles à l'action des hydrolases. Après hydrolyse de ces substances par les chitinases et protéases du liquide exuvial, les complexes glycoprotéiques hygroscopiques libérés pourraient, par absorption d'eau, se transformer en une couche gélifiée. Cette hypothèse n'a été ni vérifiée ni infirmée jusqu'ici; notons, à cet égard, que la composition en acides aminés des protéines de la couche membraneuse ne diffère guère celle des protéines des autres strates (Voss-Foucart et Jeuniaux, 1978).



### 5. RÉSORPTION DES CONSTITUANTS ORGANIQUES ET MINÉRAUX AU COURS DE LA MUE CHEZ QUELQUES DÉCAPODES

S'il est bien démontré qu'une partie de la chitine et des arthropodines cuticulaires est dégradée au cours de la mue, et que de l'acétylglucosamine et des acides aminés sont absorbés par l'épiderme pendant la période préecdysiale, il est toujours difficile de préciser l'importance quantitative de ces phénomènes. En effet, dans les travaux antérieurs (par exemple Jeuniaux, 1963; Hohnke, 1971), les poids de chitine, protéines, sels minéraux, etc., analysés dans la carapace à divers stades de prémue, sont exprimés par rapport à un paramètre nécessairement variable pendant cette période, en l'occurrence le poids sec de la carapace (tableau 1). Dans un travail récent (Goffinet *et al.*, 1986), au contraire, les poids de chitine (dosée par méthode enzymatique spécifique), de protéines et de calcium sont exprimés par unité de surface de carapace, paramètre constant au cours d'une même période préecdysiale. Les résultats ainsi obtenus chez *Carcinus maenas* (tableau 1)

TABLEAU I

Dégradation des constituants cuticulaires de la carapace chez 3 espèces de Décapodes Brachyours au cours des stades préecdysiaux (d'après Jeuniaux, 1963, Hohnke, 1971 et Goffinet *et al.*, 1986) :

(1) pesée du résidu sec après déminéralisation et extraction des matières organiques par divers solvants.

(2) mesure par spectrophotométrie d'absorption atomique.

(3) dosé par méthode enzymatique.

<i>CANCER PAGURUS</i> (JEUNIAUX, 1963)	C 4	D 1	D 2	Exuvie
	g/100 g de carapace sèche			
Sels minéraux solubles HCl 0.5 N	86.1	88.2	89.1	93.5
Chitine (1)	9.6	8.4	7.8	4.5
Arthropodines	2.0	1.6	1.1	0.28
Sclérotines	2.0	2.0	2.4	1.9
<i>HEMIGRAPUS NUDUS</i> (HOHNKE, 1971)				
Chitine (1)	10.7(±0.02)	12.7(±0.4)	-	4.9 (±2.7)
<i>CARCINUS MAENAS</i> (GOFFINET et al., 1984)	mg/cm <sup>2</sup> de carapace			
Ca (2)	14.2(± 2.4)	-	14.7(±3.1)	14.7(±3.7)
Chitine (3)	3.27(±1.3)	-	3.42(±0.41)	1.76(±0.64)
Protéines solubles dans HCl 0.5 N	0.60(±0.1)	-	0.41(±0.1)	0.24(±0.1)
Protéines solubles dans NaOH 0.5N	1.13(±0.2)	-	1.34(±0.4)	1.00(±0.3)

montrent que la chitine et les protéines solubles de l'ancienne carapace subissent une importante dégradation (respectivement 47 et 60% de perte de la quantité initiale), tandis que le calcium ne subit aucune mobilisation. Contrairement à ce qui se passe chez d'autres Crustacés, surtout dulcaquicoles (notamment les Ecrevisses), le calcium de la cuticule des Crabes est donc rejeté avec l'exuvie.

### CONCLUSION

La cuticule des Crustacés est une structure hautement organisée, dans laquelle les complexes chitinoprotéiques sont associés en microfibrilles, celles-ci se regroupant en macrofibres dans la couche principale, en réseaux réticulés dans la couche pigmentaire. Entre ces architectures fibrillaires, s'insèrent les dépôts minéraux qui jouent le rôle principal dans la rigidité des sclérites.

Peut-on considérer la cuticule comme une structure exosquelettique anhiste, à l'instar de la coquille des Mollusques, par exemple? Il semble que non. En effet, plus on étudie la cuticule des Crustacés, plus on constate que les relations avec l'épiderme sont intimes. Les fibres chitinoprotéiques sont déposées autour de microvillosités épidermiques, délimitant ainsi des canalicules intracuticulaires. Ceux-ci sont beaucoup plus nombreux et plus complexes qu'on le pensait naguère; ils obéissent à une séquence de mise en place et de rétraction, et jouent certainement un rôle important dans le transfert de constituants cuticulaires et de réactifs depuis la cellule jusqu'aux strates externes de la cuticule. Il n'est donc pas possible de continuer à décrire la cuticule des Crustacés comme une structure anhiste.

### Remerciements

Les auteurs remercient M. Ph. Compère, aspirant F.N.R.S., pour les résultats et documents qu'il leur a communiqués, ainsi que Mme Ch. De Ridder-Breuer et N. Decloux pour leur aide technique. Ce travail a été réalisé grâce au support financier consenti par le Fonds National Belge de la Recherche Scientifique (F.N.R.S.) (programme F.R.F.C. n° 2.4506.83).

### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BLACKWELL, I. & WEBB, M.A., 1980. — Structure of chitin-protein complexes : ovipositor of the Ichneumon fly, *Megarhyssa*. *J. Molec. Biol.*, 137, pp. 49-60.
- BOULIGAND, Y., 1965. — Sur une architecture torsadée répandue dans de nombreuses cuticules d'Arthropodes. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 261, pp. 3665-3668.
- BRINE, C.J., 1982. — Chitin — Protein interactions. In : Chitin and Chitosan, Proceed. IInd Internat. Conf. on Chitin & Chitosan, Sapporo (Japan). S. Hirano and S. Tokura, ed., pp. 105-110.
- CAREY, P.G., 1965. — Chitin synthesis *in vitro* by Crustacean enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 16, pp. 155-158.
- CHRISTIANSEN, M.E. & COSTLOW, J.D.Jr., 1982. — Ultrastructural study of the exoskeleton of the estuarine crab *Rhithropanopeus harrisi* : effect of the insect growth regulator dimilin (Diflubenzuron) on the formation of the larval cuticle. *Marine Biol.*, 66, pp. 217-226.

- COHEN, E., 1982. — *In vitro* chitin synthesis in an Insect : formation and structure of microfibrils. *Eur. J. Cell. Biol.*, 16, pp. 289-294.
- DRACH, P., 1939. — Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes, *Ann. Inst. Océanogr.*, 19, pp. 103-392.
- FILSHIE, B.K. and HADLEY, N.F., 1979. — Fine structure of the cuticle of the desert scorpion, *Hadrurus arizonensis*. *Tissue Cell*, 11, pp. 249-262.
- GILES, C.H., HASSAN, A.S.A., LAIDLAW, M. and SUBRAMANIAN, R.V.R., 1958. — Some observations on the constitution of chitin and on its absorption of inorganic and organic acids from aqueous solutions. *J. Soc. Dy. Col.*, 74, pp. 647-654.
- GIRAUD, M.M., 1981. — Carbonic anhydrase activity in the integument of the crab *Carcinus maenas* during the intermolt cycle. *Comp. Bioch. Physiol.*, 69, pp. 381-387.
- GIRAUD-GUILLE, M.M., 1984. — Fine structure of the chitin-protein system in the crab cuticle. *Tissue Cell*, 16, pp. 75-92.
- GIRAUD-GUILLE, M.M. and BOULIGAND, Y., 1985. — Chitin-protein molecular organization in Arthropod cuticles. In : Chitin in Nature and Technology. Muzzarelli R.A.A., Jeuniaux, Ch. and Gooday, G.W., ed., Plenum Press, 1985.
- GOFFINET, G., RAICK, D. et VOSS-FOUART, M.F., 1986. — Altération morphologique et chimique de la carapace du Crabe *Carcinus maenas* au cours des stades préecdysiaux. *Tissue Cell*, en préparation.
- GREEN, J.P. and NEFF, M.R., 1972. — A survey of the fine structure of the integument of the fiddler crab. *Tissue Cell*, 4, pp. 137-171.
- HACKMAN, R.H., 1974. — The soluble cuticular proteins from three Arthropod species : *Scylla serrata* (Decapoda, Portunidae), *Boophilus microplus* (Acarina, Ixodidae) and *Agrionome spinicollis* (Coleoptera, Cerambycidae). *Comp. Bioch. Physiol.* 49 B, pp. 457-464.
- HOHNKE, L.A., 1971. — Enzymes of chitin metabolism in the Decapod *Hemigrapsus nudus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 40 B, pp. 757-779.
- JEUNIAUX, ch., 1959. — Sur la géification de la couche membraneuse chez les Crabes en mue. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, 67, pp. 516-517.
- JEUNIAUX, ch., 1963. — *Chitine et chitinolyse* (un chapitre de la Biologie moléculaire). Masson ed., Paris, 181 p.
- JEUNIAUX, ch. COMPÈRE, Ph. et GOFFINET, G., 1986 - Structure, synthèse et dégradation des chitino protéines de la cuticule des Crustacés Décapode. *Boll. Zool.*, 53, pp 183-196.
- KUMMEL, G., CLAASEN, H. und KELLER, R., 1970. — Zur Feinstruktur von Cuticula und Epidermis beim Flusskrebs *Orconectes limosus* während eines Häutungszyklus., *Z. Zellforsch. Microsk. Anat.*, 109, pp. 517-551.
- LOCKE, M., 1970. — The molt-intermolt cycle of the epidermis and other tissues of an insect *Calpodex ethlius* (Lepidoptera, Hesperidae). *Tissue Cell*, 2, pp. 197-223.
- LOCKE, M. and KRISHNAN, N., 1971. — The distribution of phenoloxydases and polyphenols during cuticle formation. *Tissue Cell*, 1, pp. 103-126.
- NEVILLE, A.C., 1975. — Biology of the Arthropod cuticle. Springer Verlag, Berlin, 448 pp.
- NEVILLE, A.C. and BERG, C.W., 1971. — Cuticle ultrastructure of a Jurassic crustacean (*Eryma stricklandi*). *Paleontology*, 14, pp. 201-205.
- RICHARDS, A.G., 1951. — The integument of Arthropods. Univ. Minnesota Press, Minneapolis, 411 pp.
- RUDALL, K.M., 1965. — Skeletal structures in insects. *Biochem. Soc. Symp.*, 25, pp. 83-92.
- RUIZ-HERRERA, J., SING, V.D., VAN DER WOUDE, W. and BARTNICKI-GARCIA, S., 1975. — Microfibril assembly by granules of chitin synthetase. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72, pp. 2706-2710.
- VOSS-FOUART, M.F. et JEUNIAUX, ch., 1978. — Etude comparée de la couche principale et de la couche membraneuse de la cuticule chez six espèces de Crustacés Décapodes. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, 119, pp. 127-142.
- WELINDER, B.S., 1975. — The Crustacean cuticle. III Composition of the individual layers in *Cancer pagurus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 52 A, pp. 659-663.